

Распределение генотипов *Helicobacter pylori* в Узбекистане

М. М. Каримов, Г. Н. Собирова, Ж. А. Исмаилова, Д. А. Далимова, С. Т. Рустамова

Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр терапии и медицинской реабилитации, Ташкент, Узбекистан

Ключевые слова: НР-инфекция, рак желудка, геномная ДНК, гены *CagA*, *VacA*, *IceA*, тест Фишера

Современная медицина, в том числе и гастроэнтерология, во всем мире развивается путем принятия консенсусов и соглашений в различных отраслях медицины. В отношении заболеваний, ассоциированных с *Helicobacter pylori* (НР), этим документом является Маастрихтские соглашения, где четко указаны принципы диагностики НР, показания и принципы эрадикационной терапии [1, 4]. Но эти протоколы не следует принимать как догму, потому что медицина постоянно развивается, появляются новые факты и, главное, каждый регион имеет свои особенности по частоте распространения НР-инфекции, ее патогенных характеристик и резистентности к антибиотикам [1]. Между тем, Узбекистан, наряду с другими странами региона, относится к странам с высоким уровнем инфицированности населения НР, достигающим в отдельных регионах 60–80% и коррелирующим с высокой частотой рака желудка [5].

В настоящее время отмечено, что несмотря на высокую инфицированность НР во многих странах, не у всех возникают ассоциированные с этой инфекцией заболевания, такие как гастриты, язва желудка и двенадцатиперстной кишки, рак желудка [3]. Вероятнее всего, что развитие этих заболеваний связано с присутствием генов вирулентности у бактерии. То есть необходимо строго отделить те генотипы бактерии, которые вызывают развитие заболеваний желудка, и определить неопасные и менее опасные генотипы. Полная эрадикация НР в регионе, где инфицированность составляет более 80%, практически невозможна, слишком высока вероятность рецидива заражения. Поэтому одним из способов предотвращения развития заболеваний желудка, а особенно рака желудка, мы видим определение вирулентности НР, обитающей в желудке пациентов.

Целью наших исследований явилось определение вирулентности НР у больных гастроэнтерологическими заболеваниями в Узбекистане.

Материал и методы исследования. Обследовано 100 образцов, взятых при проведении биопсии у больных, получивших стационарное лечение в отделении гастроэнтерологии АО «Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр терапии и медицинской реабилитации». Из них 4 пациента были с эрозивным бульбитом, 16 — с неспецифическим язвенным колитом, 14 — с хроническим гастритом В, 30 — с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки и 36 — с раком желудка, которые были распределены на пять групп согласно нозологии. Из каждого биопсийного образца была выделена геномная ДНК с использованием наборов реагентов Diatom™ DNA Prep 200 (производство ООО «Лаборатория ИзоГен»). Выделение ДНК проводилось по стандартному протоколу выделения ДНК для набора реагентов Diatom™ DNA Prep 200 с модификацией стадии лизирования до 16 ч при 37 °С. Супернатант с ДНК подвергался непосредственно генотипированию путем ПЦР-амплификации. ПЦР-анализ проводили с использованием набора реагентов для ПЦР-амплификации ДНК GenePak™ PCR Core (производство ООО «Лаборатория ИзоГен»). ПЦР-амплификация проводилась по модифицированному протоколу. Типирование образцов ДНК по генам *CagA*, *VacA* и *IceA* проводили с использованием специфических олигонуклеотидных праймеров, приведенных в таблице 1. Продукты ПЦР-амплификации визуализировали в 2% агарозном геле в течение 1,5–2 ч при напряжении 120 В; окрашивали бромистым этидием, визуализировали в ультрафиолетовом свете и фотографировали в гель-документационной системе.

Таблица 1. Результаты типирования

Ген	Праймер	Последовательность праймера (5' 3')	Размер (п. н.) и местоположение
<i>Cag A</i>	CAGAF CAGAR	GATAACAGGCAAGCTTTTGAGG CTGCAAAAGATTGTTTGGCAGA	349 (1228–1576)

Результаты исследований. Нами было генотипировано 100 образцов, взятых при проведении биопсии, по генам вирулентности *CagA*, *VacA*, *IceA*, из них 57 образцов было выделено в Хорезмской области и Республике Каракалпакстан, 43 образца — у пациентов из города Ташкента и Ташкентской области. Разработан метод прямого генотипирования НР из биопсийного материала, показана его эффективность для 100 образцов биопсии.

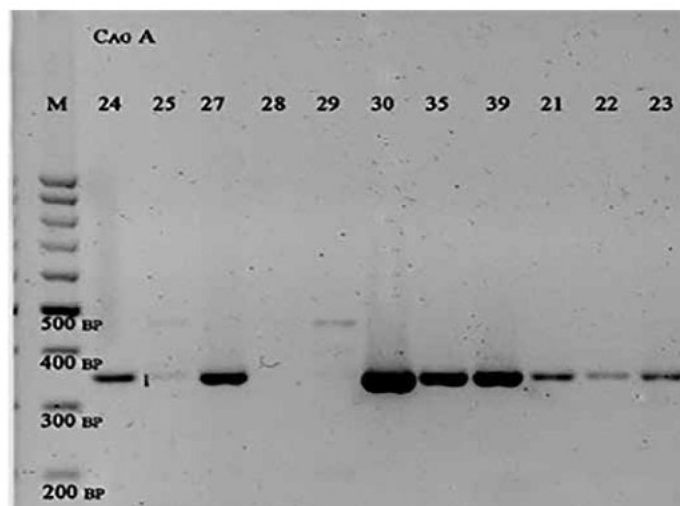


Рис. 1. Ген вирулентности *CagA*.

Как показали полученные результаты генотипирования (табл. 2), в 85 (85%) из 100 образцов был обнаружен ген *CagA*. Практически во всех образцах — 99 (99%) был верифицирован ген *VacA s*.

Таблица 2

Распределение генотипов *CagA*, *VacA* и *IceA* НР в общей выборке

<i>CagA</i>	Отриц. (-)	Полож. (+)		
	15	85		
	15%	85%		
<i>VacA s</i>	s1	s2	s1,2	s-
	68	14	17	1
	68%	14%	17%	1%
<i>VacA m</i>	m1	m2	m1,2	m-
	24	58	14	4
	24%	58%	14%	4%
<i>IceA</i>	A1	A2	A1,2	A-
	22	9	60	9
	22%	9%	60%	9%

Каждая из пяти обследованных групп отражает возрастающую степень тяжести заболеваний желудочно-кишечного тракта, самым тяжелым из которых является рак желудка. В литературе существуют данные, свидетельствующие об ассоциации гена *CagA* с различными гастродуоденальными патологиями.

Проведенные исследования показали, что ген *CagA* имел следующее распределение: в группе больных эрозивным бульбитом ($n = 4$) он встречался во всех образцах, в группе больных неспецифическим язвенным колитом ($n = 16$) был определен в 11 образцах, в группе больных гастритом ($n = 14$) — в 13 образцах. В группах страдающих язвой (желудка и двенадцатиперстной кишки) ($n = 30$) и раком желудка ($n = 36$) *CagA*+ генотип был верифицирован в 28 и 29 образцах соответственно (рис. 2).

Количество *CagA*-положительных генотипов

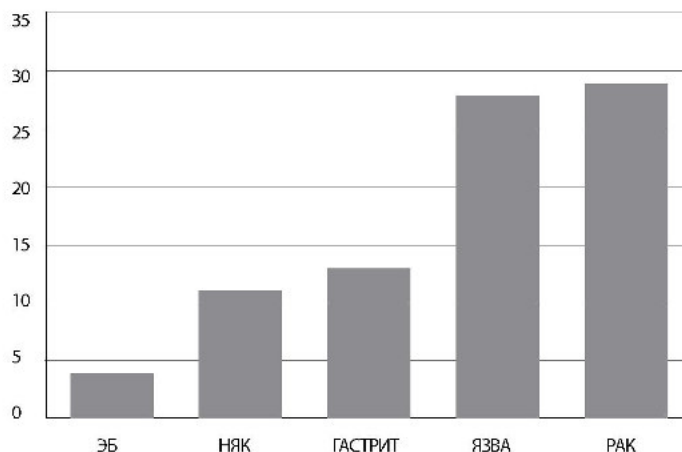


Рис. 2. Распределение *CagA* генотипа в общей выборке по группам с различными заболеваниями.

Подсчитать достоверность распределения столь различных по численности выборок для каждой отдельно взятой патологии не представлялось возможным: это связано с тем, что в общей выборке отсутствует контрольная группа здоровых людей, или же не инфицированных, но страдающих определенным гастродуоденальным расстройством. Однако тест Фишера позволил подсчитать достоверность для общей выборки. В качестве нулевой гипотезы рассматривалась вероятная ассоциация *CagA* положительных генотипов с гастродуоденальными патологиями (для пяти в данной работе). Значение p оказалось достаточно высоким — $p = 0,206$, при условии, что $p \geq 0,05$, имеем 85% достоверности. Результат χ^2 -теста — $\chi^2 = 6,67$ (степеней свободы 4), по таблице квантилей вычисляем вероятность, которая равна 0,154, что подтверждает достоверное распределение в данном исследовании.

Выводы:

- Положительный *CagA*-штамм встречается у 70% больных гастродуоденальной патологией, чаще у больных из города Ташкента.
- Отрицательный *CagA*-штамм встречался у пациентов Хорезмской области в два раза чаще по сравнению с пациентами из Ташкента.
- Наше исследование продемонстрировало наличие близких генотипов микроорганизма НР у больных эрозивным бульбитом, хроническим гастритом и язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки.
- Полученные результаты необходимо учитывать при назначении антихеликобактерной терапии.

Литература:

1. Лазебник Л. Б. VIII съезд научного общества гастроэнтерологов России. Стандарты «Диагностика и терапия кислотозависимых заболеваний, в том числе ассоциированных с *Helicobacter pylori*» / Л. Б. Лазебник, Ю. В. Васильев // Экспериментальная гастроэнтерология. — 2008. — №3. — С. 130–134.
2. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report / P. Malfertheiner, F. Megraud, C. O'Morain [et al.] // Gut. — 2007. — Vol. 56, No 6. — P. 772–781.
3. Graham D. Y. New concepts of resistance in the treatment of *Helicobacter pylori* infections / D. Y. Graham,

- A. Shiotani // Nat. Clin. Pract. Gastroenterol. Hepatol. — 2008. — Vol. 5. — P. 321–331.
4. Management of *Helicobacter pylori* infection — the Maastricht IV/ Florence Consensus Report / P. Malfertheiner, F. Megraud, C. O'Morain [et al.] // Gut. — 2012. — Vol. 61, No 5. — P. 772–781.
5. The prevalence of the *cagA* and *vacA* genotypes of *H. pylori* from patients with upper gastrointestinal diseases in Uzbekistan / A. Abdurakhimov, D. Dalimova, S. Turdikulova, R. Mukhamedov // European Journal of Human Genetics. — 2014. / J03.13/

УДК 616.392–008.3–085.242.4..547.932

RU Распределение генотипов *Helicobacter pylori* в Узбекистане

М. М. Каримов, Г. Н. Собирова, Ж. А. Исмаилова, Д. А. Далимова, С. Т. Рустамова

Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр терапии и медицинской реабилитации, Ташкент, Узбекистан

Ключевые слова: HP-инфекция, рак желудка, геномная ДНК, гены *CagA*, *VacA*, *IceA*, тест Фишера

В настоящее время отмечено, что несмотря на высокую инфицированность *Helicobacter pylori* (HP) во многих странах, не у всех инфицированных возникают ассоциированные с этой инфекцией заболевания, такие как гастриты, язва желудка и двенадцатиперстной кишки, рак желудка. Полная эрадикация HP в регионе, где инфицированность составляет более 80%, практически невозможна — слишком высока вероятность рецидива заражения. Поэтому одним из способов предотвращения развития заболеваний желудка, особенно рака желудка, мы видим определение вирулентности HP, обитающей в желудке пациентов. Целью исследований является определение вирулентности HP у больных гастроэнтерологическими заболеваниями в Узбекистане.

УДК 616.392–008.3–085.242.4..547.932

UA Розподіл генотипів *Helicobacter pylori* в Узбекистані

М. М. Карімов, Г. Н. Собірова, Ж. А. Ісмаїлова, Д. А. Далімова, С. Т. Рустамова

Республіканський спеціалізований науково-практичний медичний центр терапії та медичної реабілітації, Ташкент, Узбекистан

Ключові слова: HP-інфекція, рак шлунка, геномна ДНК, гени *CagA*, *VacA*, *IceA*, тест Фішера

Зараз відзначається, що незважаючи на високу інфікованість *Helicobacter pylori* (HP) у багатьох країнах, не в усіх інфікованих виникають асоційовані з цією інфекцією захворювання, такі як гастрити, виразка шлунка і дванадцятипалої кишки, рак шлунка. Повна ерадикація HP в регіоні, де інфікованість становить понад 80%, практично неможлива — надто висока ймовірність рецидиву зараження. Тому одним із способів запобігання розвитку захворювань шлунка, особливо раку шлунка, ми бачимо визначення вирулентності HP, що мешкає в шлунку пацієнтів. Метою досліджень є визначення вирулентності HP у хворих із гастроентерологічними захворюваннями в Узбекистані.

EN Distribution of genotypes of *Helicobacter pylori* in Uzbekistan

M. M. Karimov, J. A. Ismailova, G. N. Sobirova, D. A. Dalimova, S. T. Rustamova

Republican Specialized Scientific Practical Medical Center of Therapy and Medical Rehabilitation, Tashkent, Uzbekistan

Key words: HP-infection, gastric cancer, genomic DNA, genes *CagA*, *VacA*, *IceA*, Fisher test

It is stated now that in spite of the high level of *Helicobacter pylori* (HP) infection in many countries such associated diseases as gastritis, gastric and duodenal ulcer, gastric cancer do not occur everywhere. Total eradication of HP in the region, where the level of infection is above 80%, is almost not available as the risk of relapse is too high. So one of the ways to prevent the development of gastric diseases, especially gastric cancer, is the determining HP virulence in stomach of patients. The aim is to study HP virulence in patients with gastrointestinal diseases in Uzbekistan.